บทที่ 4
ผลการวิจัย

1. การตรวจสอบชนิด (specie)ของกวาวโดยใช้เทคนิค ไอโซไซม์ เจล อิเลคโตรโฟรีซีส

การตรวจสอบชนิด (specie) ของกวาว 5 ชนิด (species) เพื่อแยกความแตกต่างโดยใช้รูปแบบของไอโซไซม์ Aspartate amino transferase (AAT or GOT) , Esterase (EST) , Leucine amino peptidase (LAP) ,Malate dehydrogenase (MDH) และ Peroxidase (POX) ด้วย Polyacrylamide gel electrophoresis โดยพิจารณาจาก ตำแหน่ง ขนาด จำนวน และความเข้มของแถบสี ของไอโซไซม์ นำระยะทางการเคลื่อนที่(ตำแหน่ง) มาคำนวณหาค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ (Relative migration) หรือค่า Rf ของโปรตีนมาตราฐานแต่ละชนิด ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์เป็นค่าการเคลื่อนที่ของโปรตีนเมื่อเปรียบเทียบกับการเคลื่อนที่ของ " tracking dye"

$$Rf = \frac{\text{ระยะทางการเคลื่อนที่ของโปรตีนจากจุดเริ่มต้น}}{\text{ระยะทางการเคลื่อนที่ของจาก "tracking dye"จุดเริ่มต้น}}$$

การศึกษาครั้งนี้ได้นำตัวอย่างกวาวที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ - 20 ^{0}C ในลักษณะบดละเอียดนานกว่า 6 เดือน และตัวอย่างกวาวสดมาเปรียบเทียบกันเพื่อดูกิจกรรม (activity) ของไอโซไซม์ โดยพิจารณาจากจำนวนแถบและความเข้มของแถบสีของไอโซไซม์ที่ปรากฏบนเจลปรากฏผลการวิจัยดังนี้

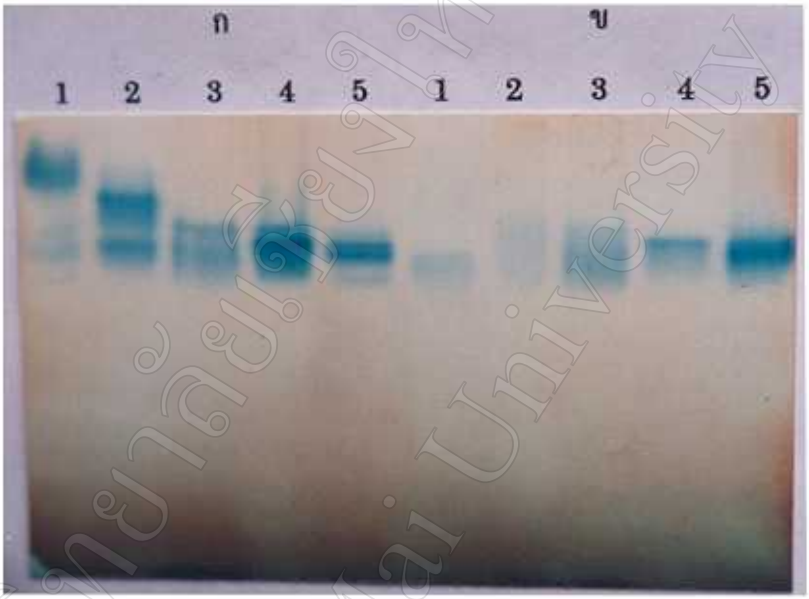
1.1 การศึกษาลักษณะรูปแบบของไอโซไซม์ Aspartate amino transferase (AAT or GOT)

การศึกษารูปแบบไอโซไซม์ AAT หรือ GOTของกวาวจำนวน 5 ชนิด(species) แถบที่ปรากฏบนเจลจะมีสีฟ้าอมเขียว ขนาดของแถบมีความแตกต่างกัน จำนวนแถบที่ปรากฏในกวาวแต่ละชนิดจะพบตั้งแต่ 2 แถบถึง 3 แถบ ตำแหน่งของแถบที่ปรากฏอยู่บริเวณตอนบนของเจล (รูปที่ 7)

การเปรียบเทียบรูปแบบของไอโซไซม์ AAT หรือ GOTโดยพิจารณาจากจำนวนและตำแหน่งของแถบจากตัวอย่างกวาวที่นำมาศึกษาสามารถจำแนกรูปแบบของไอโซไซม์ AAT หรือ GOTได้ 5 รูปแบบตามจำนวนและขนาดของแถบ (รูปที่ 8) จำนวนแถบในตัวอย่างกวาวแต่ละชนิด(species) พบว่า *P. stricta* มีจำนวน 3 แถบ , *P. alopecuroides* , *P. wallichii* , *P.phaseoloides* และ *P. mirifica* มีจำนวน 2 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 0.2 - 0.4 ซึ่งรูปแบบของไอโซไซม์ AAT หรือ GOT สามารถนำมาใช้เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของกวาวทั้ง 5 ชนิด(species) ได้

ตารางที่ 3 แสดงการกำหนดค่าการมีแถบสีและไม่มีแถบสีของไอโซไซม์ AAT หรือ GOTในกวาว 5 ชนิด(species)

ตัวอย่าง/ตำแหน่ง	1	2	3	4	5	6	รวม
P. stricta	1	0	0	0	1	1	3
P. wallichii	0	1	0	0	1	0	2
P. phaseoloides	0	0	1	0	1	0	2
P. mirifica	0	0	1	1	0	0	2
P. alopecuroides	0	0	0	1	0	1	2



รูปที่ 7 ภาพถ่ายของไอโซไซม์ AAT หรือ GOT ของกวาว 5 ชนิด(species)

ก. ไอโซไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างสด

ข. ไอโซไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างที่เก็บไว้นานกว่า 6 เดือน

ตัวอย่างกวาว 1. *P. stricta*

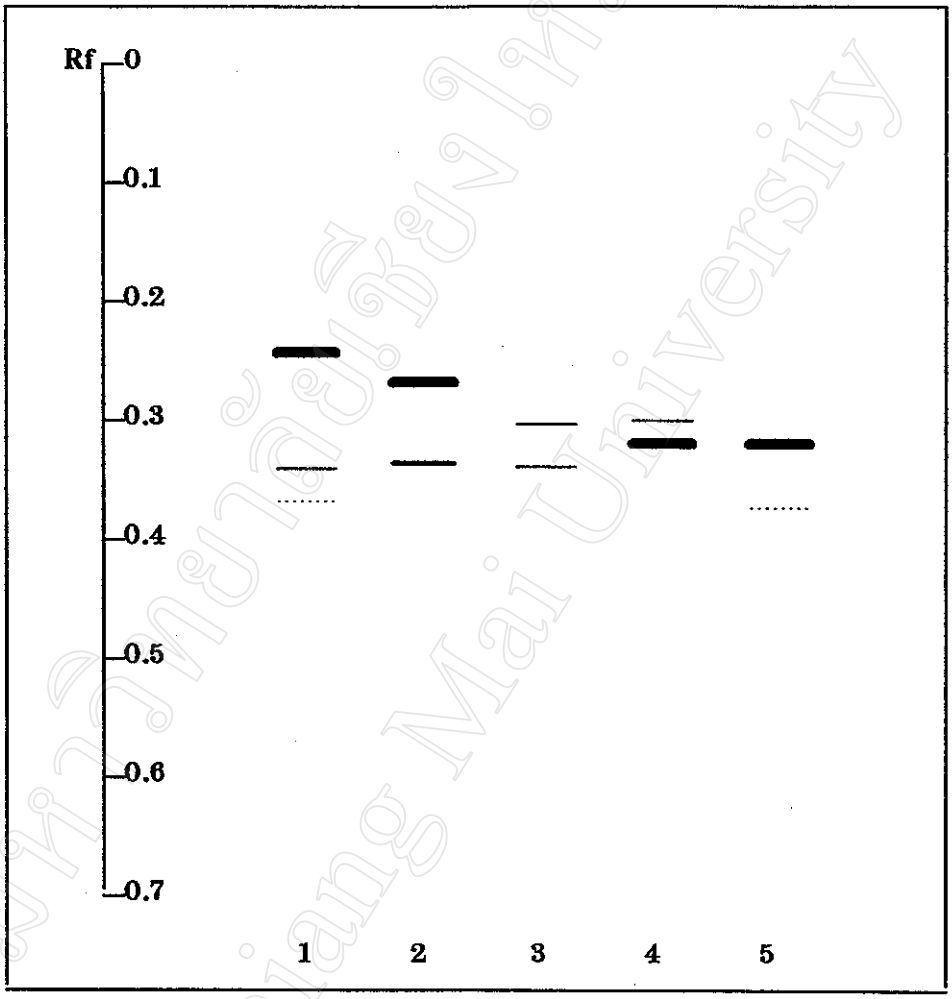
2. *P. wallichii*

3. *P. phascoloides*

4. *P. mirifica*

5. *P. alopecuroides*

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



รูปที่ 8 รูปแบบ Zymogram ของ Aspartate amino transferase (AAT or GOT)

1. *P.stricta*
2. *P.wallichii*
3.. *P.phaseoloides*
4. *P.mirifica*
5. *P.alopecuroides*

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

1.2. การศึกษาลักษณะรูปแบบของไอโซไซม์ Esterase (EST)

การศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ EST ของกวาวจำนวน 5 ชนิด(species) ลักษณะของแถบสีที่ปรากฏบนเจลจะมีความแตกต่างกัน 2 แบบ ได้แก่ แถบสีน้ำตาลแดง เกิดจาก α - naphthyl acetate เป็นสับเสตรท และแถบดำแกมเขียว เกิดจากกิจกรรมของเอนไซม์ซึ่งใช้ β - naphthyl acetate เป็นสับเสตรท ตำแหน่งของแถบที่พบในกวาวแต่ละชนิด(species) จะอยู่บริเวณตอนกลางและตอนล่างของเจล (รูปที่ 9)

การเปรียบเทียบรูปแบบของไอโซไซม์ EST ในกวาวในแต่ละชนิด(species) พบว่ามีรูปแบบของไอโซไซม์ EST 5 รูปแบบ จำนวนแถบที่ปรากฏมีทั้งหมด 8 แถบ ซึ่งพบว่าใน *P. mirifica* มีจำนวน 6 แถบ , *P. stricta* มีจำนวน 5 แถบ , *P. alopecuroides* มีจำนวน 3 แถบ , *P. phaseoloides* และ *P. wallichii* มีจำนวน 2 แถบ แถบที่ปรากฏจะมีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์อยู่ระหว่าง 0.4 - 0.7 (รูปที่ 10) ซึ่งรูปแบบของไอโซไซม์ EST สามารถนำมาใช้เปรียบเทียบความแตกต่างของกวาวทั้ง 5 ชนิด(species) ได้

ตารางที่ 4 แสดงการกำหนดค่าการมีแถบสีและไม่มีแถบสีของไอโซไซม์ EST ในกวาว 5 ชนิด(species)

ตัวอย่าง/ ตำแหน่ง	1	2	3	4	5	6	7	8	รวม
P. stricta	0	0	1	1	1	0	1	1	5
P. wallichii	0	1	0	1	0	0	0	0	2
P. phaseoloides	0	0	0	1	1	0	0	0	2
P. mirifica	1	0	0	1	1	1	1	1	6
P. alopecuroides	0	1	0	0	0	0	1	1	3

รูปที่ 9 ภาพถ่ายของไอโซไซม์ EST ของกวาว 5 ชนิด(species)

ก. ไอโซไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างสด

ข. ไอโซไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างที่เก็บไว้นานกว่า 6 เดือน

ตัวอย่างกวาว 1. *P. stricta*

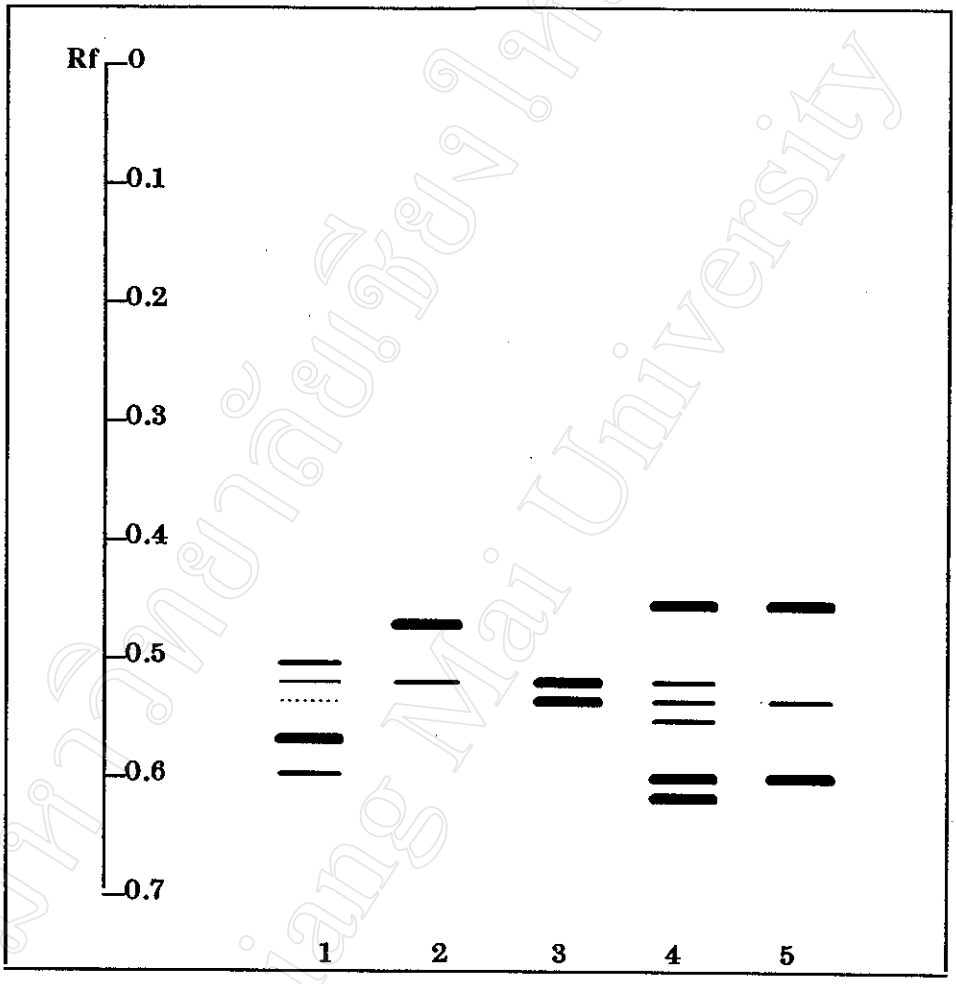
2. *P. wallichii*

3. *P. phaseoloides*

4. *P. mirifica*

5. *P. alopecuroides*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



รูปที่ 10 รูปแบบ Zymogram ของ Esterase (EST)

1. *P.stricta*
2. *P.wallichii*
3.. *P.phaseoloides*
4. *P.mirifica*
5. *P.alopecuroides*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

1.3.การศึกษาลักษณะรูปแบบของไอโซไซม์ Leucin amino peptidase (LAP)

จากการศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ LAP จากกวาวจำนวน 5 ชนิด(species) แถบที่ปรากฏบนเจลจะมีสีน้ำตาลแดง ลักษณะของแถบสีที่ปรากฏสามารถแบ่งออกได้ 3 รูปแบบ จำนวนแถบที่ปรากฏทั้งหมดมี 3 แถบ สามารถแบ่งกลุ่มกวาวโดยอาศัยรูปแบบของไอโซไซม์ได้ 3 กลุ่ม จำนวนแถบที่พบในกวาวแต่ละชนิด(species) มี 2 แถบถึง 3 แถบ ตำแหน่งของแถบจะอยู่บริเวณกลางเจล (รูปที่ 11) รูปแบบของไอโซไซม์ LAP สามารถนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของตัวอย่างกวาวได้ไม่ชัดเจนเนื่องจากในกลุ่มที่ 1 คือ *P. stricta* และ *P. alopecuroides* ตำแหน่งของแถบที่ปรากฏอยู่ในตำแหน่งเดียวกันและมีจำนวนแถบที่ปรากฏมีจำนวน 2 แถบเท่ากัน ในกลุ่มที่ 2 คือ *P. wallichii* และ *P. phaseoloides* ตำแหน่งของแถบที่ปรากฏอยู่ในตำแหน่งเดียวกันและจำนวนแถบที่ปรากฏมีจำนวน 2 แถบเท่ากัน แต่ใน *P. mirifica* พบว่ามีจำนวนแถบ 3 แถบ ซึ่งจะมีความแตกต่างกับกลุ่มที่ 1 และ 2 ตามลำดับ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบอยู่ระหว่าง 0.4 - 0.5 (รูปที่ 12)

ตารางที่ 5 แสดงการกำหนดค่าการมีแถบสีและไม่มีแถบสีของไอโซไซม์ LAP ในกวาว 5 ชนิด(species)

ตัวอย่าง/ ตำแหน่ง	1	2	3	4	รวม
P. stricta	1	1	0	0	2
P. wallichii	0	1	0	1	2
P. phaseoloides	0	1	0	1	2
P. mirifica	0	1	1	1	3
P. alopecuroides	1	1	0	0	2

รูปที่ 11 ภาพถ่ายของไอโซไซม์ LAP ของกวาว 5 ชนิด(species)

ก. ไอโซไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างสด

ข. ไอโซไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างที่เก็บไว้นานกว่า 6 เดือน

ตัวอย่างกวาว 1. *P. stricta*

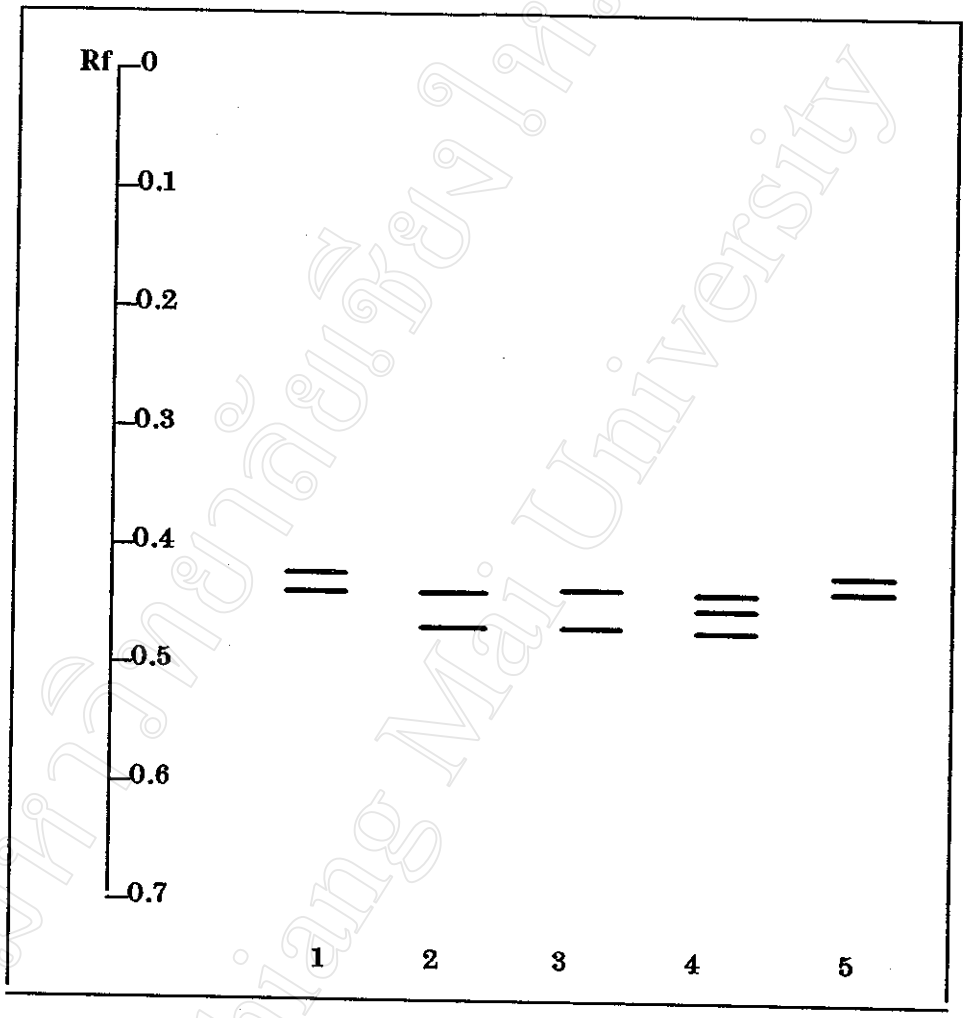
2. *P. wallichii*

3. *P. phaseoloides*

4. *P. mirifica*

5. *P. alopecuroides*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



รูปที่ 12 รูปแบบ Zymogram ของ Leucine amino peptidase (LAP)

1. *P.stricta*
2. *P.wallichii*
3.. *P.phaseoloides*
4. *P.mirifica*
5. *P.alopecuroides*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University

1.4. การศึกษาลักษณะรูปแบบของไอโซไซม์ Malate dehydrogenase (MDH)

การศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ MDH ลักษณะของแถบที่ปรากฏมีสีน้ำเงิน บริเวณที่พบแถบจะอยู่บริเวณตอนบนและตอนกลางของเจล แถบที่ปรากฏบนเจลไม่ค่อยชัดเจนส่วนใหญ่ จะเห็นเป็นแถบหนา(รูปที่ 11) จำนวนของแถบที่ปรากฏมีทั้งหมด 8 แถบ ซึ่งจะมีค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์จะอยู่ระหว่าง 0.2 - 0.5 (รูปที่ 12) จำนวนแถบของตัวอย่างกวาวแต่ละชนิด(species) จะมีตั้งแต่ 2 แถบ ถึง 4 แถบ ใน *P. wallichii* มีจำนวน 4 แถบ , *P. alopecuroides* , *P. stricta* และ *P. phaseoloides* มีจำนวน 3 แถบ และ *P. mirifica* มีจำนวน 2 แถบ ซึ่งรูปแบบของไอโซไซม์ MDH ที่ปรากฏในกวาวแต่ละชนิด(species)จะพบว่าสามารถนำมาเปรียบเทียบความแตกต่างของกวาวได้แต่การพิจารณาแถบสีจะค่อนข้างยากเนื่องจากการปรากฏของแถบเป็นปื้นสี

ตารางที่ 6 แสดงการมีแถบสีและไม่มีแถบสีของไอโซไซม์ MDH ในกวาว 5 ชนิด(species)

ตัวอย่าง/ตำแหน่ง	1	2	3	4	5	6	7	8	รวม
P. stricta	0	0	1	0	1	1	0	0	3
P. wallichii	1	0	0	0	1	1	1	0	4
P.phaseoloides	0	0	0	1	0	0	1	1	3
P. mirifica	0	0	1	0	0	1	0	0	2
P. alopecuroides	0	1	0	1	1	0	0	0	3

1.5. การศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ Peroxidase (POX)

การศึกษารูปแบบของไอโซไซม์ POX ของกวาว 5 ชนิด(species) แถบที่ปรากฏบนเจลจะมีสีน้ำตาล ตำแหน่งที่ปรากฏแถบเจลอยู่บริเวณตอนบนและตอนกลางของเจล (รูปที่13) ลักษณะของแถบที่ปรากฏบนเจลมีความแตกต่างกัน 5 รูปแบบ จำนวนแถบที่พบมีจำนวน

รูปที่ 13 ภาพถ่ายของไอโซไซม์ MDH ของกวาว 5 ชนิด(species)

ก. ไอโซไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างสด

ข. ไอโซไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างที่เก็บไว้นานกว่า 6 เดือน

ตัวอย่างกวาว 1. *P. stricta*

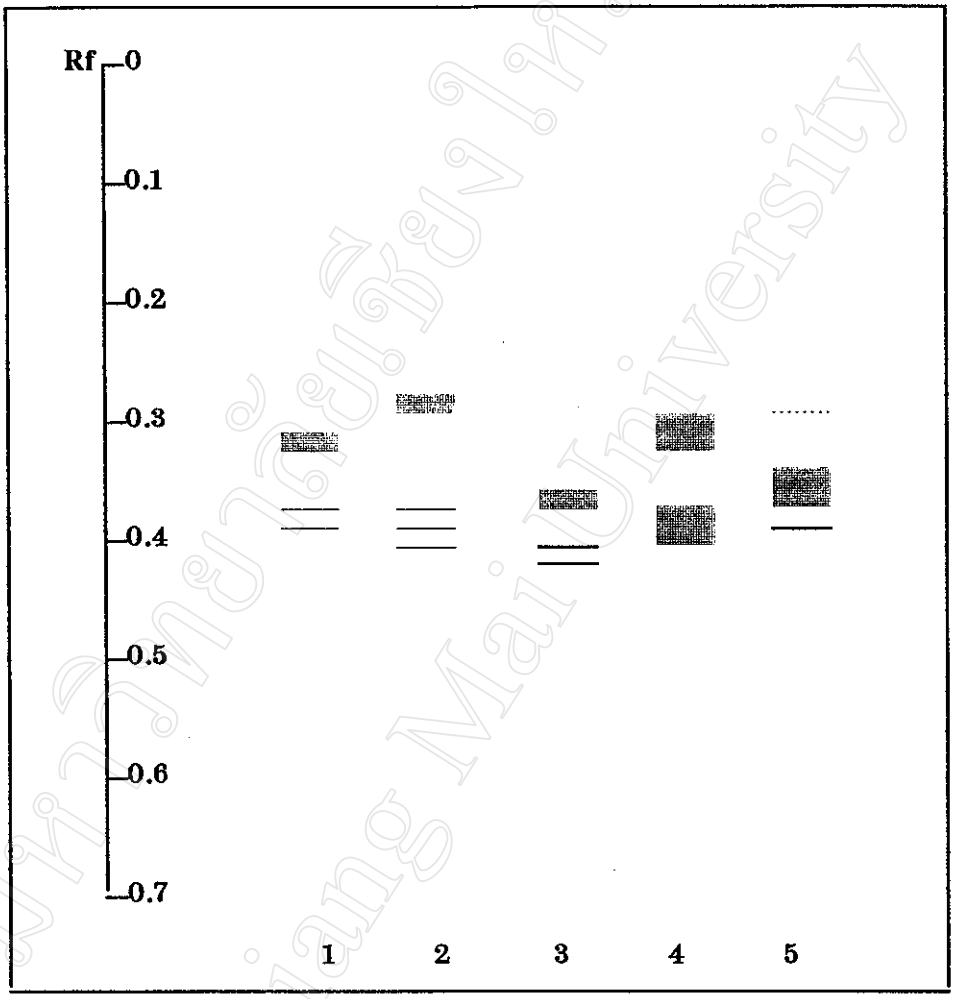
2. *P. wallichii*

3. *P. phaseoloides*

4. *P. mirifica*

5. *P. alopecuroides*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



รูปที่ 14 รูปแบบ Zymogram ของ Malate dehydrogenase (MDH)

1. *P.stricta*
2. *P.wallichii*
3.. *P.phaseoloides*
4. *P.mirifica*
5. *P.alopecuroides*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

12 แถบ (รูปที่ 14) โดยใน *P. alopecuroides* มีจำนวน 6 แถบ , *P. phaseoloides* และ *P. wallichii* มี จำนวน 5 แถบ , *P. mirifica* และ *P. stricta* มีจำนวน 4 แถบ ค่าการเคลื่อนที่สัมพัทธ์ของแถบจะอยู่ระหว่าง 0.1 - 0.5

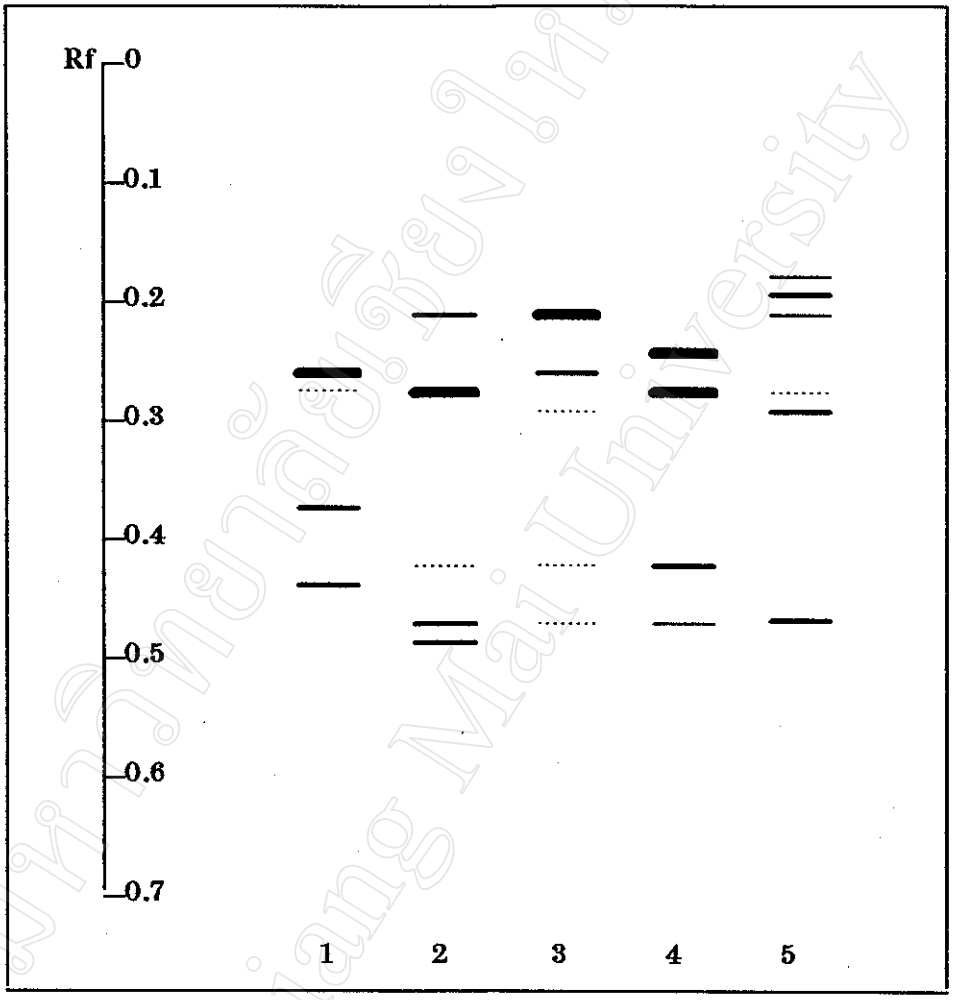
ตารางที่ 7 แสดงการกำหนดค่าการมีแถบสีและไม่มีแถบสีของไอโซไซม์ POX ใน กวาว 5 ชนิด(species)

ตัวอย่าง/ ตำแหน่ง	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	รวม
P. stricta	0	0	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0	4
P. wallichii	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	5
P. phaseoloides	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	5
P. mirifica	0	0	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	4
P. alopecuroides	1	1	1	0	0	1	1	0	0	0	1	0	6

การวิเคราะห์กลุ่มของกวาวทั้ง 5 ชนิด (species) โดยใช้ค่าการมีแถบและไม่มีแถบของไอโซไซม์ทั้ง 5 ชนิด เพื่อแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของกวาวและนำเสนอในรูปของ Dendrogram (รูปที่ 17) พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่าง (dissimilarlity coefficient) เท่ากับ 2 กวาวทั้ง 5 ชนิด (species) จะมีความแตกต่างกัน และเนื่องจากตัวอย่างกวาวที่นำมาศึกษาต่างชนิด (species) กันจึงพบว่าจะมีค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างกัน(dissimilarlity coefficient) สูง ซึ่งชนิดของกวาวที่นำมาศึกษาครั้งนี้พบว่า *P. wallichii* และ *P. phaseoloides* มีความแตกต่างกันน้อยที่สุด *P. alopecuroides* และ *P. mirifica* มีความแตกต่างกันมากที่สุด (รูปที่ 17)

รูปที่ 15 ภาพถ่ายของไอโซไซม์ POX ของกวาว 5 ชนิด(species)
ก. ไอโซไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างสด
ข. ไอโซไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างที่เก็บไว้นานกว่า 6 เดือน
ตัวอย่างกวาว 1. *P. stricta*
2. *P. wallichii*
3. *P. phaseoloides*
4. *P. mirifica*
5. *P. alopecuroides*

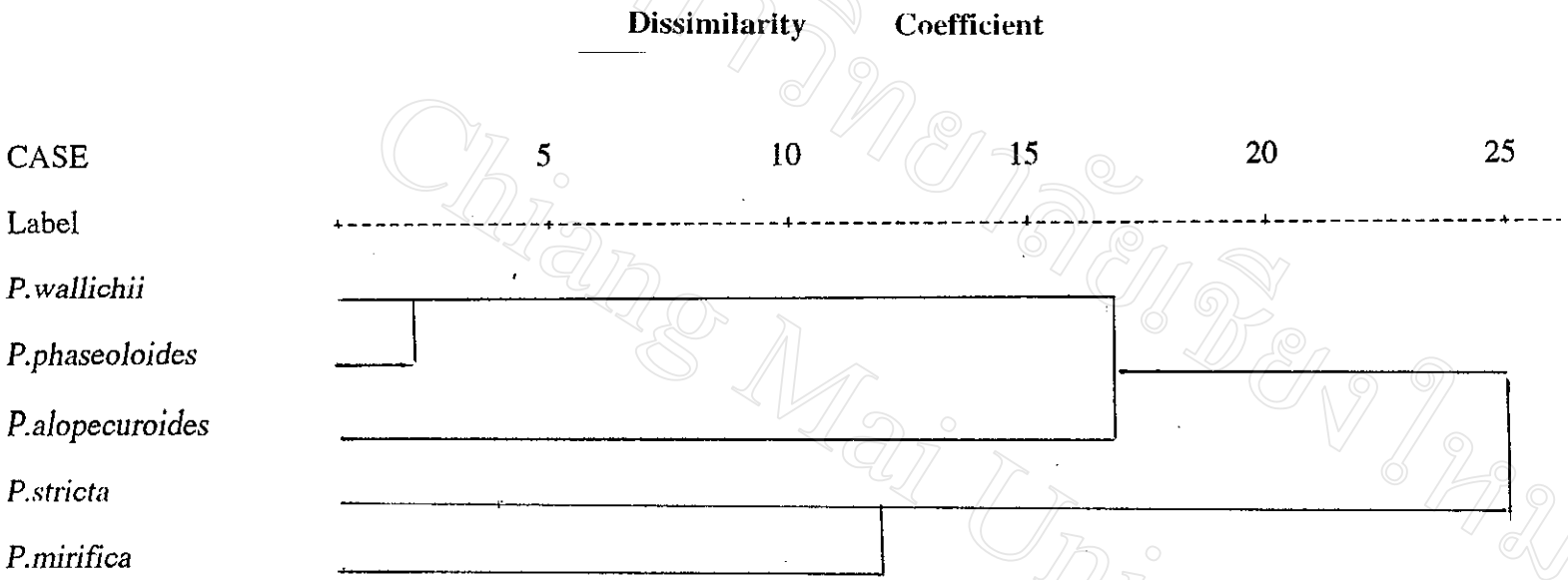
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



รูปที่ 16 รูปแบบ Zymogram ของ Peroxidase (POX)

1. *P.stricta*
2. *P.wallichii*
3.. *P.phaseoloides*
4. *P.mirifica*
5. *P.alopecuroides*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



รูปที่ 17 Dendrogram แสดงความแตกต่างของกวาว 5 ชนิด (species)โดยการใช้ไอโซไซม์ AAT or GOT, EST, LAP, MDH และ POX

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

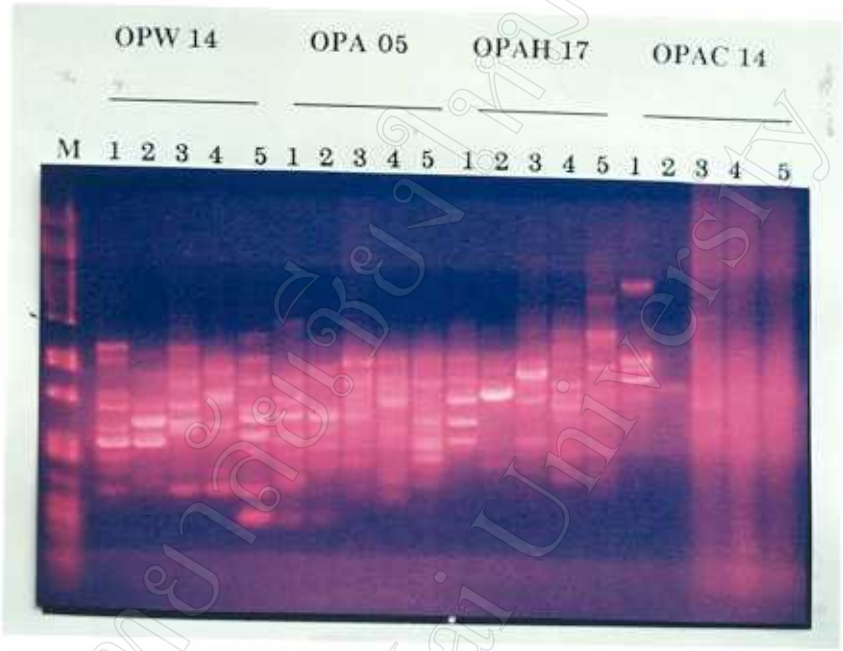
1.6 กิจกรรม (Activity) ของไอโซไซม์ จากตัวอย่างกวาวสดและตัวอย่างกวาวที่เก็บไว้นานกว่า 6 เดือน

เมื่อนำตัวอย่างกวาวสดและตัวอย่างกวาวที่เก็บไว้ในลักษณะผงบดละเอียดเก็บไว้นานกว่า 6 เดือนที่อุณหภูมิ - 20 ^{0}C มาเปรียบเทียบกิจกรรม (activity) ของไอโซไซม์ 5 ชนิด คือ AAT or GOT , EST , LAP , MDH และ POX โดยพิจารณาจาก จำนวนแถบสี ตำแหน่ง และความเข้มของแถบสีที่ปรากฏพบว่าไอโซไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างที่เก็บไว้นานกว่า 6 เดือน ในกวาวทั้ง 5 ชนิด(species) จะมีกิจกรรม (activity) กับซับสเตรทลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกิจกรรมของไอโซไซม์ที่สกัดได้จากตัวอย่างกวาวสด โดยพบว่าในไอโซไซม์ AAT หรือ GOT , EST , MDH และ POX จำนวนของแถบบางแถบจะหายไป และความเข้มของแถบสีจะลดลง (รูปที่ 7,9,13,15) แต่ในไอโซไซม์ LAP นั้นไอโซไซม์ที่สกัดจากตัวอย่างกวาวที่บดละเอียดและเก็บไว้นานกว่า 6 เดือนที่อุณหภูมิ - 20 ^{0}C จะพบว่า จำนวนของแถบยังมีจำนวนเท่ากับของไอโซไซม์ที่สกัดได้จากตัวอย่างกวาวสดแต่ความเข้มของสีที่แถบจะลดลง (รูปที่ 11)

2. การศึกษาความแตกต่างของกวาวโดยใช้เทคนิค RAPD

การศึกษาความแตกต่างของตัวอย่างกวาวโดยใช้เทคนิค RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) บน Agarose gel electrophoresis โดยเตรียม ดี เอ็น เอ จากส่วนของยอดอ่อนของกวาวบดละเอียดเก็บไว้ที่ - 70^{0}C นำไปทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้ primer ทั้งหมดจำนวน 30 ชนิด พบว่า มี primer จำนวน 12 ชนิด ที่สามารถทำให้เกิดแถบ (band) กับตัวอย่างกวาวที่ศึกษาได้ (รูปที่ 18 , 19 , 20) primer ทั้ง 12 ชนิดได้แก่ OPA 5 , OPA 19 , OPAA 07 , OPAB O4 , OPAC 14 , OPAH 17 , OPAJ 04 , OPAQ 05 , OPE 15 , OPE 20 , OPK 14 และ OPW 14 สำหรับ primer ที่เหลือ 18 ชนิด ก่อให้เกิดแถบได้ในกวาวเพียง 2 - 3 ชนิด(species) เท่านั้น

จากการศึกษาแบบแผนของลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ (DNA fingerprint)ของกวาวทั้ง 5 ชนิด(species) พบว่า primer แต่ละชนิดจะก่อให้เกิดแบบแผนของลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ ที่เฉพาะเจาะจงในกวาวแต่ละชนิด(species) แตกต่างกันออกไป (รูปที่ 18 , 19 , 20)ในจำนวน primer 12 ชนิดนี้ มี OPA 19 และ OPAJ 04 จะทำให้เกิดแถบ (band) เฉพาะในกวาว 4 ชนิด(species) เท่านั้นคือ *P. alopecuroides* , *P. phaseoloides* , *P. stricta* และ *P. wallichii* และไม่เกิดแถบ (band) ใน *P. mirifica* (รูปที่ 19) สำหรับ primer 10 ชนิด คือ OPA 5 , OPAA 07 , OPAB O4 , OPAC 14 , OPAH 17 , OPAQ 05 , OPE 15 , OPE 20 , OPK 14 และ OPW 14 นั้นจะทำให้เกิดแถบได้ในตัวอย่างกวาวทั้ง 5 ชนิด(species) แต่ความคมชัดของแถบจะแตกต่างกัน กล่าวคือ ใน primer OPE 15 , OPE 20 , OPAA 07 , OPAB 04 , OPAC 14 และ OPAQ 05 แถบจะมีความคมชัดน้อยจนยากต่อการกำหนดค่าการมีแถบและไม่มีแถบในแต่ละตำแหน่งของแถบที่ปรากฏในตัวอย่างกวาวแต่ละชนิด(species) เพื่อนำไปวิเคราะห์ความแตกต่างของกวาวแต่ละชนิด(species) สำหรับ primer OPK 14 , OPW 14 , OPA 05 และ OPAH 17 แถบที่ปรากฏจะมีความคมชัดสามารถนำมากำหนดค่าการมีแถบและไม่มีแถบเพื่อนำไปหาความใกล้ชิดทางพันธุกรรมของกวาวได้ จำนวนแถบหลักที่พบในตัวอย่างกวาว

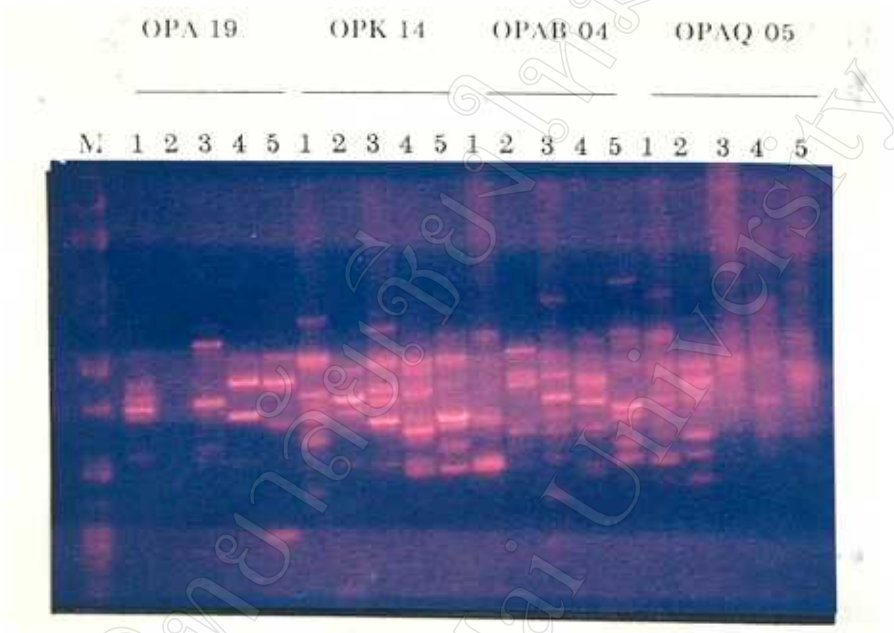


รูปที่ 18 ภาพถ่ายการแสดงแบบแผนของลายพิมพ์ดี เอ็น เอ (DNA fingerprint) ของกวาว 5 species โดยใช้ primer 4 ชนิดคือ OPW 14 , OPA 05 , OPAH 17 และ OPAC 14

ตัวอย่างกวาว
1. *P. alopecuroides*
2. *P. mirifica*
3. *P. phascoloides*
4. *P. stricta*
5. *P. wallichii*

M = Molecular weight marker λ/Pst I

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



รูปที่ 19 ภาพถ่ายการแสดงแบบแผนของลายพิมพ์ดี เอ็น เอ (DNA fingerprint) ของกวาว 5 species โดยใช้ primer 4 ชนิดคือ OPA 19 , OPK 14 , OPAB 04 และ OPAQ 15

ตัวอย่างกวาว
1. *P. alopecuroides*
2. *P. mirifica*
3. *P. phaseoloides*
4. *P. stricta*
5. *P. wallichii*

M = Molecular weight marker λ/Pst I

รูปที่ 20 ภาพถ่ายการแสดงแบบแผนของลายพิมพ์ดี เอ็น เอ (DNA fingerprint) ของกวาว 5 species โดยใช้ primer 4 ชนิดคือ OPE 15 , OPE 20 , OPAJ 04 และ OPAA 07

ตัวอย่างกวาว
1. *P. alopecuroides*
2. *P. mirifica*
3. *P. phaseoloides*
4. *P. stricta*
5. *P. wallichii*

M = Molecular weight marker λ/Pst I

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

5 ชนิด(species) ซึ่งเป็นผลจากการใช้ primer 4 ชนิดพบว่า ใน primer OPW 14 มีจำนวนแถบทั้งหมด 14 แถบ , primer OPA 05 มีจำนวนทั้งหมด11แถบ, primer OPAH 17 มีจำนวนทั้งหมด 9 แถบ และ primer OPA 14 มีจำนวนทั้งหมด 12 แถบ

ในการวิเคราะห์เพื่อบ่งบอกความแตกต่างแบบแผนของลายพิมพ์ ดี เอ็น เอ (DNA fingerprint) ของตัวอย่างกวาวที่ศึกษา 5 ชนิด(species) จะกระทำโดยการกำหนดให้การปรากฏแถบ และไม่ปรากฏแถบในแต่ละตำแหน่งของกวาวแต่ละชนิด(species) ให้มีค่าเป็น 1 และ 0 ตามลำดับ (ตารางที่ 8 ;รูปที่ 18 , 19)

ตารางที่ 8 การกำหนดค่าการปรากฏแถบ (1)และไม่ปรากฏแถบ (0) ที่เกิดจากการใช้ primer OPK 14 , OPW 14 , OPA 05 และ OPAH 17 ในกวาว 5 ชนิด (species)

primer	ตำแหน่งแถบ	*P.alopecuroides*	*P.mirifica*	*P.phaseoloides*	*P.stricta*	*P.wallichii*
	1	1	0	1	0	0
	2	1	0	0	0	1
	3	0	0	1	1	0
	4	0	0	1	0	1
	5	0	0	0	1	0
	6	1	0	0	1	0
OPW14	7	1	1	1	0	1
	8	0	1	1	0	1
	9	1	0	0	0	1
	10	1	1	0	0	0
	11	0	0	0	0	1
	12	1	0	0	0	0
	13	0	0	1	1	1
	14	0	0	0	0	1

ตารางที่ 8 การกำหนดค่าการปรากฏแถบ (1) และไม่มีแถบ (0) (ต่อ)

primer	ตำแหน่งแถบ	*P.alopecuroides*	*P.mirifica*	*P.phaseloides*	*P.stricta*	*P.wallichii*
	1	0	0	1	1	1
	2	0	1	0	0	0
	3	1	1	1	1	1
	4	1	0	0	1	0
	5	1	0	1	1	0
OPA 05	6	1	1	1	0	1
	7	1	0	0	0	1
	8	1	0	0	0	1
	9	0	0	1	0	1
	10	1	0	0	1	0
	11	0	0	0	1	0
	1	0	0	0	0	1
	2	0	0	0	0	1
	3	1	0	1	0	1
	4	0	1	1	0	1
OPAH17	5	1	1	0	1	0
	6	1	1	0	0	0
	7	1	1	1	1	0
	8	1	0	0	0	0
	9	1	0	1	1	0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

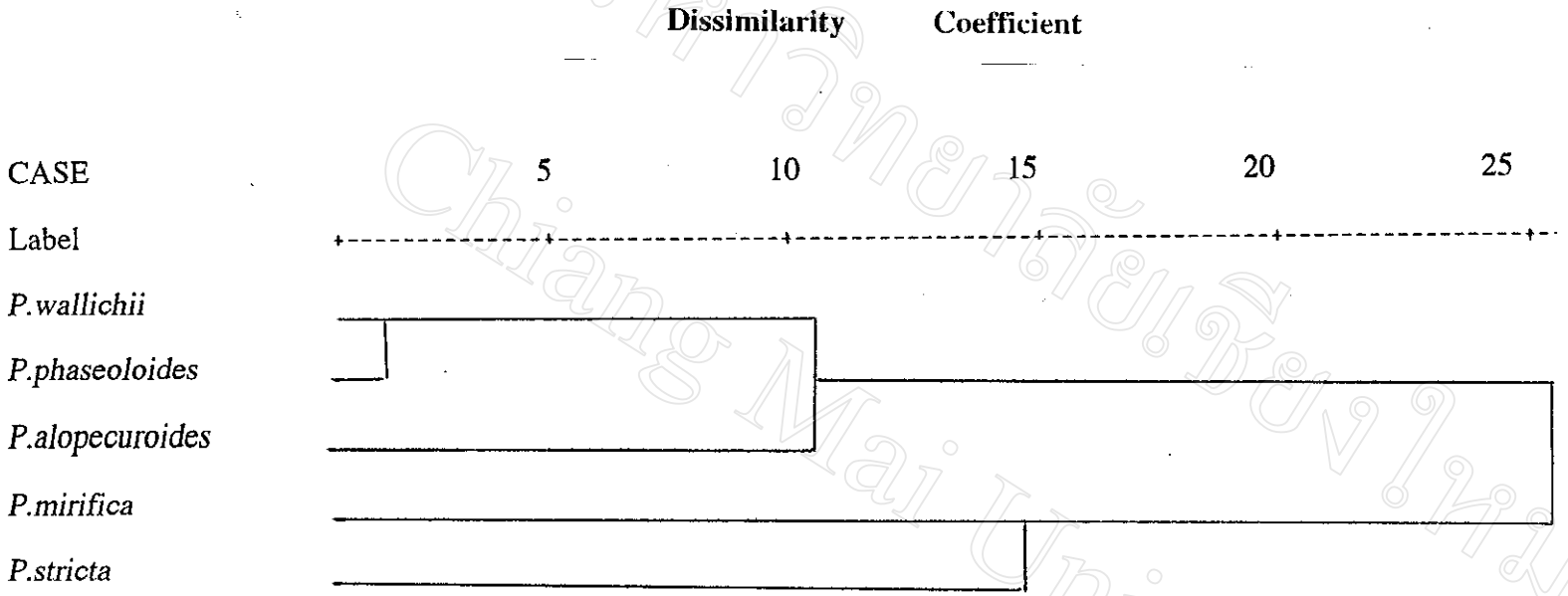
ตารางที่ 8 การกำหนดค่าการปรากฏแถบ (1) และไม่มีแถบ (0) (ต่อ)

primer	ตำแหน่งแถบ	*P.alopecuroides*	*P.mirifica*	*P.phaseoloides*	*P.stricta*	*P.wallichii*
	1	1	0	0	0	0
	2	0	0	1	0	0
	3	1	0	1	1	1
	4	0	1	0	1	0
	5	0	0	1	0	0
OPK14	6	1	0	0	1	0
	7	0	1	1	0	0
	8	0	0	1	0	1
	9	0	0	0	1	0
	10	1	0	0	0	0
	11	0	0	0	1	1
	12	0	0	0	1	1

การวิเคราะห์กลุ่มของกวาวทั้ง 5 ชนิด (species) โดยใช้ค่าการมีแถบและไม่มีแถบ ซึ่งเป็นผลจากการใช้ primer 4 ชนิด ด้วย โปรแกรม SPSS (Cluster analysis)เพื่อแสดงความสัมพันธ์ระหว่างชนิดของกวาวและนำเสนอในรูปของ Dendrogram (รูปที่ 21) พบว่าค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่าง (dissimilarlity coefficient) เท่ากับ 1 กวาวทั้ง 5 ชนิด (species) จะมีความแตกต่างกัน และเนื่องจากตัวอย่างกวาวที่นำมาศึกษาต่างชนิด (species) กันจึงพบว่าจะมีค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่างกัน(dissimilarlity coefficient)ค่อนข้างสูง ซึ่งกวาวที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่าง (dissimilarlity coefficient) สูงจะมีความแตกต่างกันมากที่สุดและกวาวที่มีค่าสัมประสิทธิ์ความแตกต่าง (dissimilarlity coefficient) ต่ำก็จะ

มีความแตกต่างกันน้อยด้วยซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า *P. wallichii* และ *P. phaseoloides* มีความแตกต่างกันน้อยที่สุด *P. alopecuroides* และ *P. mirifica* มีความแตกต่างกันมากที่สุด (รูปที่ 21)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University



มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

รูปที่ 21 Dendrogram แสดงความแตกต่างของกวาว 5 ชนิด (species) โดยการใช้ primer OPW 14, OPA 05, OPAH 17 และ OPK 14